NIPPON Genetics Co.,Ltd.

FastGene™

FastGene™ ゲル /PCR 抽出キット

用途：アガロースゲルからの DNA 抽出／ PCR 産物の精製

カタログナンバー : FG-91202 (100 preps)

カタログナンバー : FG-91302 (300 preps)

保管条件：室温（15-25℃）で保管して下さい。

FastGene™ ゲル /PCR 抽出キットは、研究目的での使用に限られます。

2013　Nov/Rev.02.3

目次

コンポーネント 3
保管と準備 3
安全にご使用していただくために　―リスクとアドバイス― 4
キットの仕様 5
プロトコル
　ゲルバンドカッターによるアガロースゲルからのゲル切片の切り出し .....6 ― 7
　アガロースゲルからの DNA 抽出 8
　PCR 産物の精製 9
ご注文情報 10
お問い合わせ 10

コンポーネント

FastGene™ ゲル /PCR 抽出キット	FG-91202 (100 preps)	FG-91302 (300 preps)
FastGene™ GP カラム	100 個	300 個
2 ml コレクションチューブ	100 個	300 個
結合バッファー GP1	80 ml	200 ml
洗浄バッファー GP2 濃縮液	25 ml	40 ml
溶出バッファー GP3※1	10 ml	30 ml
FastGene™ ゲルバンドカッター（トライアルキット）	5 本	5 本
核酸染色試薬 MidoriGreen Advance※2（トライアルキット） MidoriGreen Direct※2　（トライアルキット）	 50μl 50μl	 50μl 50μl

※1 溶出バッファーの組成は次のとおりです：10mM Tris-Cl, pH8.5（EDTA は含まれておりません）
※2 操作方法は別紙の取扱説明書をご参照ください。

キットに含まれないアイテム

試　薬：96-100% エタノール
消耗品：1.5 ml 遠心チューブ
　　ディスポーザブルピペットチップ
装　置：マニュアルピペット、遠心チューブ用遠心機、ヒートブロック、ボルテックスミキサー、
　　防護用品（白衣、グローブ、ゴーグル）

保管と準備

FastGene™ ゲル /PCR 抽出キット は、室温 (15-25° C) にて湿気を避けて保管して下さい。この条件でキットを保管した場合、最長 12 カ月間は性能と品質が落ちることなく安定性が保たれます。バッファーを使用する前には、沈殿の有無を確認し、必要に応じて 37° C で再溶解してください。

プロトコルを開始する前に、以下の準備をしてください。

FastGene™ ゲル /PCR 抽出キット	FG-91202 (100 preps)	FG-91302 (300 preps)
洗浄バッファー GP2 濃縮液	100 ml のエタノール (96-100%) を添加 混合します	160 ml のエタノール (96-100%) を添加 混合します

安全にご使用していただくために ―リスクとアドバイス―

警告：FastGene™ゲル /PCR 抽出キットは、研究目的での使用に限られます。人や動物の疾病診断目的には、ご使用いただけません。化学物質を取り扱う際は常に、実験に適した白衣、使い捨てグローブ、保護ゴーグルを着用してください。本キットの使用は、ラボ実験の訓練を受けた方が、医薬品安全性試験実施基準に基づいて行うことを強く推奨いたします。

FastGene™ ゲル /PCR 抽出キットの以下のコンポーネントには、下記の物質が含まれております。

結合バッファー GP1

チオシアン酸グアニジンを含みます：刺激物

キットの仕様

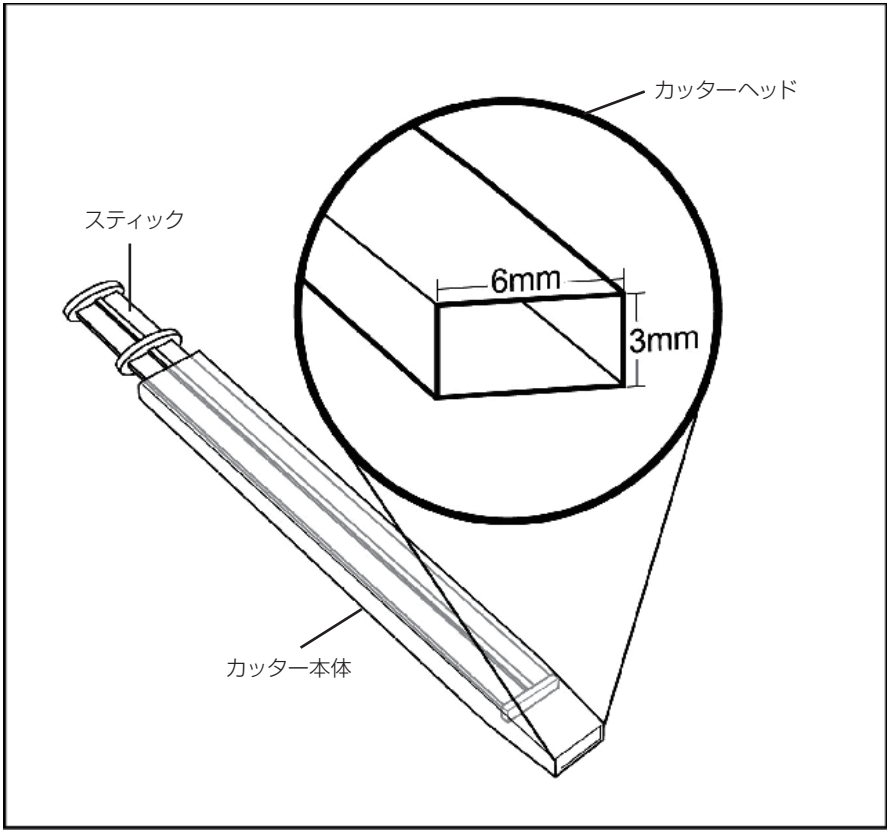
FastGene™ ゲル /PCR 抽出キットは、アガロースゲルからの DNA 抽出と、PCR 産物の精製を目的として開発されました。

	ゲル抽出	PCR クリーンアップ
最大サンプル量	ゲル切片 300 mg	PCR 反応液 100 µl
ゲル	< 2.5% TAE または TBE	—
通常の回収率	70-80%	80-90%
結合容量	10 µg	10 µg
DNA フラグメントの長さ	50 bp – 10 kbp	50 bp – 10 kbp
効果的なプライマー除去	—	< 25 bp
溶出量	20-50 µl	20-50 µl
所要時間	20 分 *	20 分

*ゲル切片の溶解時間を含みません。

プロトコル

ゲルバンドカッターによるアガロースゲルからのゲル切片の切り出し

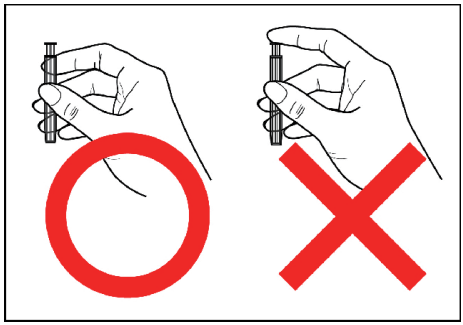


ゲル切片の重量は、アガロースゲルのパーセンテージと厚さによって変わります。ゲル切片の重量計算は、この表を参考にしてください。

ゲルの厚さ	2% アガロースゲル	1% アガロースゲル
1.0 cm	～140 mg	～130 mg
0.8 cm	～120 mg	～110 mg
0.6 cm	～100 mg	～90 mg

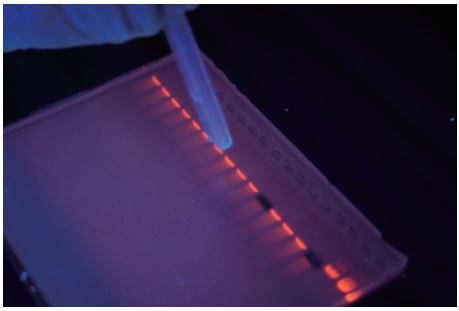
Handling

ゲルをカットする際は、スティックの上部を抑えないでください。



ゲルを UV イルミネーター上に置き、電源を入れます。それからカッターを用いて DNA バンドを直接カットします。

カッターは、同一サンプルの DNA バンドを連続で切り取り、取り込んだゲルを一度に押し出すこともできます。



スティックを押してゲルを遠心チューブに押し出します。

プロトコル

アガロースゲルからの DNA 抽出

操作を開始する前に、洗浄 Buffer GP 2 が「保管と準備」の手順（3 ページ）に従って用意されていることをご確認ください。

別途特別な記載がない限り、通常の卓上型微量遠心機での遠心は 13,000 rpm (11,000 – 18,000 G) で行います。

ゲルの分離	
• FastGene™ ゲルバンドカッターまたは清潔なメスを用いてアガロースゲルから DNA フラグメントを切り出します (アガロースの濃度は < 2.5% を推奨します)。ゲル切片をできるだけ少なくするため、余分なアガロースは取り除きます • 最大で 300 mg のゲル切片を遠心チューブに移します（遠心チューブはキットに含まれておりません）。 • 500 µl の結合バッファー GP1 をサンプルに加え、ボルテックスミキサーで撹拌します。 • ゲル切片が完全に溶解するまで、55° C で 10-15 分間インキュベートします。インキュベーションの間、2-3 分毎にチューブを転倒混和します。	
DNA の結合	
• FastGene™ GP カラムをコレクションチューブ内に入れます。 • 前ステップでのサンプル溶液を最大 800 µl 、FastGene™ GP カラムに分注し、13,000 rpm で 30 秒間遠心機にかけます。 • カラムを通過したろ液を捨て、FastGene™ GP カラムをコレクションチューブに戻します。 注意：もしもサンプル溶液が 800 µl を超える場合、DNA 結合の手順を繰り返してください。	
洗浄	
• 600 µl の洗浄バッファー GP2 を FastGene™ GP カラムに加え、13,000 rpm で 30 秒間遠心機にかけます。 • カラムを通過したろ液を捨て、FastGene™ GP カラムをコレクションチューブに戻します。 注意：TAE ゲルの場合、次のステップに進んでください。TBE ゲルの場合、ホウ酸を完全に除去するために洗浄ステップを繰り返してください。	
乾燥	
• カラムマトリックスを乾燥させるために、13,000 rpm で 2 分間、再び遠心機にかけます。	
DNA 溶出	
• FastGene™ GP カラムを新しい遠心チューブに移します（遠心チューブはキットに含まれておりません）。 • 20-50 µl の溶出バッファー GP3 を、カラムマトリックスの中心に加えます。 • 溶出バッファーがマトリックスに吸収されるまで、2 分間そのままの状態を保持します。 • 13,000 rpm で 2 分間遠心機にかけ、精製 DNA を溶出します。 注意：大きなフラグメント (> 5 kbp) の収量は、あらかじめ温めた溶出バッファー (70° C) を用いることによって改善することが可能です。	

プロトコル

PCR 産物の精製

操作を開始する前に、洗浄 Buffer GP2 が「保管と準備」の手順（3ページ）に従って用意されていることをご確認ください。

別途特別な記載がない限り、通常の卓上型微量遠心機での遠心は 13,000 rpm (11,000 – 18,000 G) で行います。

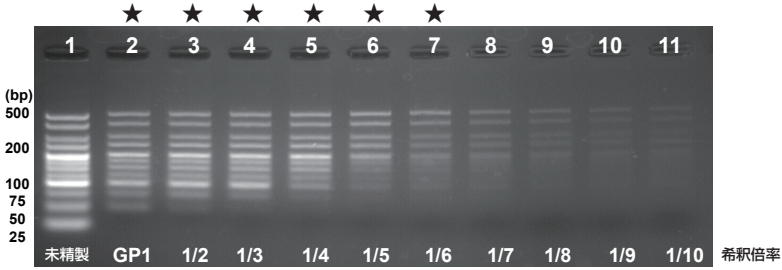
サンプルの準備	
• 1：5 の割合で、サンプルに結合バッファー GP1 を加えます。(例えば 40 µl の PCR 反応液に対しては 200 µl の結合バッファー GP1 を加えます)。 注意：サンプル量が 40 µl 以下の場合、結合バッファー GP1 又は PCR グレード水を用いてサンプル量が 40 µl になるよう調節してください。 • ボルテックスミキサーで撹拌します。 • PCR 反応液に結合バッファー GP1 を加えた総量が PCR チューブの容量を超える場合は、PCR 反応液を遠心チューブに移して使用してください。(遠心チューブはキットに含まれておりません)。	
DNA の結合	
• FastGene™ GP カラムをコレクションチューブ内に入れます。 • 前ステップのサンプル溶液を FastGene™ GP カラムに分注し、13,000 rpm で 30 秒間遠心機にかけます。 • カラムを通過したろ液を捨て、FastGene™ GP カラムをコレクションチューブに戻します。	
洗浄	
• 600 µl の洗浄バッファー GP2 を FastGene™ GP カラムに加え、13,000 rpm で 30 秒間遠心機にかけます。 • カラムを通過したろ液を捨て、FastGene™ GP カラムをコレクションチューブに戻します。	
乾燥	
• カラムマトリックスを乾燥させるために、13,000 rpm で 2 分間、再び遠心機にかけます。	
DNA 溶出	
• FastGene™ GP カラムを新しい遠心チューブに移します（遠心チューブはキットに含まれておりません)。 • 20-50 µl の溶出バッファー GP3 を、カラムマトリックスの中心に加えます。 • 溶出バッファーがマトリックスに吸収されるまで、2 分間そのままの状態を保持します。 • 13,000 rpm で 2 分間遠心機にかけ、精製 DNA を溶出します。 注意：大きなフラグメント (> 5 kbp) の収量は、あらかじめ温めた溶出バッファー (70° C) を用いることによって改善することが可能です。	

サポートプロトコル

PCR 産物精製

本キットでは、50bp未満のDNAフラグメントが除去されるようバッファーが最適化されています。しかし、プライマーダイマーなどのより大きなサイズ（50bp ～ 100bp）のDNAフラグメントを除去するために、結合バッファー GP1をPCRグレード水で希釈して用いる方法があります。
最適な希釈倍率については、「回収するDNAフラグメント」と「除去したいDNAフラグメント」、それぞれのサイズと量に依存しますので、いくつかの希釈倍率の条件でお試しください。
下記のデータは、結合バッファー GP1希釈による事例です。
ご注意：結合バッファー GP1を希釈することで、DNAのトータル回収率は低下いたします。

＜例＞ 結合バッファー GP1希釈によるDNAサイズマーカー回収サイズの違い



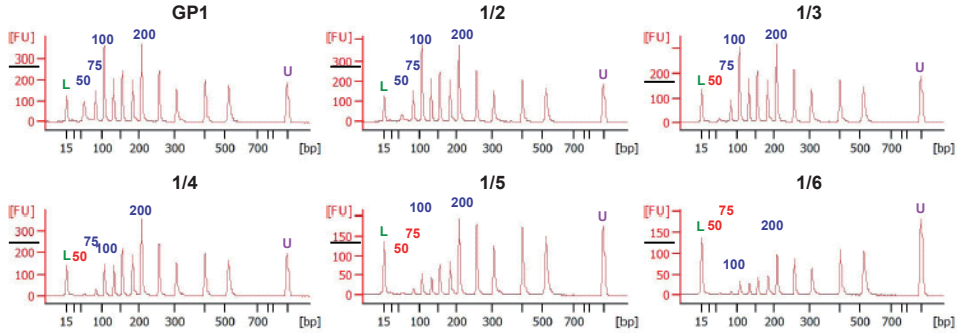
レーン1　　：DNAマーカー（500,400,300,250,200,175,150,125,100,75,50,25bp）
レーン2　　：Binding buffer GP1そのままで精製（標準）
レーン3-11：Binding buffer GP1を水で希釈して精製

電気泳動条件：4%アガロースゲル 20min

DNAマーカー（960ng/5μl）各10μlをサンプルとして、Binding buffer GP1を水で1/2 ～ 1/11まで希釈した場合と標準プロトコールどおりに精製した場合で比較しました。溶出は20μlで実施しました。
精製後のサンプルの電気泳動は、元のDNA量が等量になるように、各レーンに以下のとおり添加しました。
レーン1　　5μl
レーン2 ～ 11　10μL

〈参考〉上記の電気泳動画像レーン2～7（★印）のサンプルを用いたAgilent Bioanalyzerでの比較データです。

L：Lower Marker
U：Upper Marker



ご注文情報

商品名	カタログナンバー
FastGene™ ゲル /PCR 抽出キット (100 preps)	FG-91202
FastGene™ ゲル /PCR 抽出キット (300 preps)	FG-91302
FastGene™ ゲルバンドカッター (50 本)	FG-830
FastGene™ プラスミドミニキット (100 preps)	FG-90402
FastGene™ プラスミドミニキット (300 preps)	FG-90502
FastGene™ ダイターミネーター除去キット (50 preps)	FG-9411
核酸染色試薬 Midori Green Advance（1ml）	NE-MG04
核酸染色試薬 Midori Green Direcr（1ml）	NE-MG06

お問い合わせ

日本ジェネティクス株式会社

【本　　社】
〒112-0004 東京都文京区後楽 1-4-14 後楽森ビル 18 階
TEL : 03-3813-0961 FAX : 03-3813-0962

【西日本営業所】
〒604-8277 京都市中京区西洞院通御池下ル 565 番地ラフィーネ御池 3 階
TEL : 075-257-5421 FAX : 075-257-5422

より詳しい製品情報、お問い合わせの詳細、ご質問、トラブルシューティングに
つきましては、弊社ウェブサイト（www.n-genetics.com）をご確認ください。

E-mail :info@genetics-n.co.jp

FastGene® は Nippon Genetics Co.,Ltd. の登録商標です。